

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

013651892

WPI Acc No: 2001-136104/200114

XRAM Acc No: C01-039834

Preparation of a composition based on probiotics using bacteria -
NoAbstract

Patent Assignee: DOBIAS J (DOBI-I); EBRINGER L (EBRI-I)

Inventor: DOBIAS J; EBRINGER L

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
SK 9701728	A3	19990712	SK 971728	A	19971218	200114 B
SK 280832	B6	20000814	SK 971728	A	19971218	200114

Priority Applications (No Type Date): SK 971728 A 19971218

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

SK 9701728	A3			A23L-001/054	
------------	----	--	--	--------------	--

SK 280832	B6			A23L-001/054	Previous Publ. patent SK 9701728
-----------	----	--	--	--------------	----------------------------------

Title Terms: PREPARATION; COMPOSITION; BASED; BACTERIA; NOABSTRACT

Derwent Class: B04; D16

International Patent Class (Main): A23L-001/054

International Patent Class (Additional): A23L-001/059; C12N-001/20

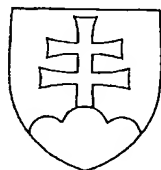
File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-F10; B05-B01D; D05-C02

SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

280 832

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl⁷:

A 23L 1/054
A 23L 1/059
C 12N 1/20

- (21) Číslo prihlášky: 1728-97
(22) Dátum podania: 18.12.1997
(31) Číslo prioritnej prihlášky:
(32) Dátum priority:
(33) Krajina priority:
(40) Dátum zverejnenia: 12.07.1999
(45) Dátum zverejnenia udelenia
vo Vestníku: 14.08.2000
(86) Číslo PCT:

(76) Majiteľ a pôvodca patentu: Ebringer Libor, prof. RNDr., DrSc., Bratislava, SK;
Dobias Jozef, Ing., CSc., Bratislava, SK;

(74) Zástupca: Dolanská Elena, RNDr., Bratislava, SK;

(54) Názov vynálezu: Prostriedok na báze probiotík, spôsob prípravy probiotických baktérií obsiahnutých v prostriedku a použitie tohto prostriedku

(57) Anotácia:

Prostriedok na báze probiotík, ktorého podstata spočíva v tom, že je tvorený lyofilizovanými probiotickými baktériami mliečneho kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* s organicky naviazaným selénom v množstve 410 až 420 µg Se/1g lyofilizovaných baktérií, pričom obsah živých zárodkov v 1 g lyofilizovaných baktérií je 2,3 až 9,0 · 10¹¹. Probiotické baktérie obsiahnuté v prostriedku sa pripravujú tak, že sa baktérie mliečneho kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* kultivujú v kultivačnom médiu za prídavku anorganickej soli selénu v množstve 0,00033 až 0,00046 % hmotn. pri teplote 37 °C až 42 °C počas 15 až 18 hodín, vzniknutý produkt sa oddelí, premyje sterilným fyziologickým roztokom a nakoniec sa podrobí lyofilizácii. Prostriedok možno použiť na prípravu potravinárskych výrobkov s probiotickými účinkami.

Oblasť techniky

Vynález sa týka prostriedku na báze probiotík, spôsobu prípravy probiotických baktérií obsiahnutých v prostriedku a použitia tohto prostriedku.

Doterajší stav techniky

Probiotiká sú živé organizmy vyskytujúce sa najmä v niektorých potravinách, napríklad v mliečnych produktoch pripravených fermentáciou, ktoré priaznivo pôsobia na živočíšny a ľudský organizmus tým, že zabezpečujú optimálne zloženie črevnej mikroflóry. Existuje už veľa dôkazov, že baktérie mliečného kysnutia sa vyznačujú antimutagénymi, antikarcinogénymi, imunostimulačnými a anticholesterolemickými vlastnosťami, v dôsledku čoho sa im pripisuje významný podiel aj na prevencii infekčných, nádorových a srdcovocievnych ochorení, ako aj pri oddiaľovaní nástupu senescencie (Ebringer, L., et al.: Anti-mutagenic and immuno-stimulatory properties of lactic acid bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 11, 294 - 298, 1995; Bakalinsky, A. T., et al.: Antimutagenicity of yoghurt. *Mut. Res.* 350, 199 - 200, 1996; Pool-Zobel, B. L., et al.: Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in the *Salmonella typhimurium* mutagenicity assay. *Nutr. Cancer* 20, 261 až 270, 1993; Singh, J., et al.: *Bifidobacterium longum*, a lactic acid producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18, 141, 833 - 841, 1997; Zacconi, C., et al.: Serum cholesterol levels in axenic mice colonized with *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*. *Microbiologica* 15: 413 - 418, 1992; Challa, A., et al.: *Bifidobacterium longum* and lactulose suppress azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis* 18: 517-521, 1997; Orhage, K., et al.: Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic bacteria. *J. Dairy Sci.* 78: 491 - 497, 1995; Hadauli, S., et al.: Antagonistic activity exerted in vitro and in vivo by *Lactobacillus casei* (strain GG) against *Salmonella typhimurium* C5 infection. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 513 až 518, 1997).

Selén patrí do skupiny esenciálnych stopových prvkov potrebných na udržanie optimálnej aktivity glutatióperoxidázy. Tento enzým hrá významnú úlohu pri ochrane biologických membrán proti škodlivým účinkom reaktívnych foriem kyslíka. Nedostatok tohto mikroelementu v potrave je jedným z dôležitých rizikových faktorov zvýšeného výskytu rakoviny (Combs, G. F., and Combs, S. B.: The role of selenium in nutrition, Academic Press, Orlando, 1986; Tex, G., et al.: Low plasma selenium as a risk factor for cancer death in middleaged men. *Nutr. Cancer* 10: 221 až 229, 1987; Lee, B. J., et al.: Molecular biology of selenium and its role in human health. *Molecules and Cells* 6: 509 až 520, 1996; Fleet, J. C. and Mayer, J.: Dietary selenium repletion may reduce cancer incidence in people at high risk who live in areas with low soil selenium. *Nutr. Rev.* 55: 277 až 279, 1997).

Vo všeobecnosti je príjem selénu potravou pomerne nízky. Je pravdepodobné, že časť populácie nedostáva v potrave ani dolnú odporúčanú dávku (50 µg/deň). Nedostatok selénu v potrave sa rieši príchovovaním anorganickými soľami selénu, čím sa dostáva tento prvok do potravinového reťazca. Ďalší spôsob spočíva v príprave tabliet obsahujúcich anorganické soli selénu, ale selén v anorganickej forme sa na rozdiel od selénu viazaného v bielkovinách ťažšie uťilizuje.

Podstata vynálezu

Uvedené nevýhody do značnej miery odstraňuje prostriedok na báze probiotík, ktorého podstata spočíva v tom, že je tvorený lyofilizovanými probiotickými baktériami mliečného kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* s organicky naviazaným selénom v množstve 410 až 420 µg Se/1g lyofilizovaných baktérií, pričom obsah živých zárodkov v 1 g lyofilizovaných baktérií je 2,3 až 9,0 · 10¹¹.

Podstata spôsobu prípravy probiotických baktérií obsiahnutých v tomto prostriedku spočíva v tom, že baktérie mliečného kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* sa kultivujú v kultivačnom médiu za prídavku anorganickej soli selénu v množstve 0,00033 až 0,00046 % hmotn. pri teplote 37 °C až 42 °C počas 15 až 18 hodín, vzniknutý produkt sa oddelí, premyje sterilným fyziologickým roztokom a nakoniec sa podrobí lyofilizácii.

Kultivácia môže prebiehať aj za anaeróbných podmienok pod atmosférou CO₂.

Podstatou vynálezu je aj použitie predmetného prostriedku na prípravu potravinárskych výrobkov s probiotickými účinkami.

Prostriedok podľa vynálezu má vlastnosti probiotík a má schopnosť zásobovať organizmus esenciálnym selénom viazaným do organickej formy. Zabudovanie selénu do bielkovín probiotických baktérií možno považovať za významný prostriedok slúžiaci na znižovanie rizika civilizačných ochorení. Baktérie mliečného kysnutia okrem pôvodných priaznivých účinkov na zdravie človeka sa tak stávajú aj nosičmi organických foriem selénu, ktoré majú výhodnejšie vlastnosti oproti anorganickým selénovým soľam. Selenoaminokyseliny, ktoré sa nachádzajú v bielkovinách mliečnych baktérií, sa stávajú v gastrointestinálnom trakte človeka prekursorom pre biosyntézu glutatióperoxidázy a ďalších ochranných enzýmov s antioxidačnými účinkami.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Príprava probiotika s obsahom organicky viazaného selénu kultiváciou *Enterococcus faecium*

Baktérie rodu *Enterococcus faecium* sa stacionárne kultivovali v objeme 10 l v sklenenej nádobe uzavretej zátkou z papierovej vaty na pôde, ktorá mala nasledovné zloženie: peptón 10,0 g, mäsový extrakt 10,0 g, kvasničný extrakt 5,0 g, glukóza 20,0 g, tween 80 1,0 g, citrát amónny 2,0 g, octan sodný 5,0 g, síran horečnatý 0,1 g, síran mangnatý 0,05 g, hydrofosforečnan draselný 2,0 g, destilovaná voda 1000 ml. pH pôdy sa upravilo na hodnotu 6,5 ± 0,2 pred sterilizáciou. Osobitne sa pripravil sterilný roztok Na₂SeO₃ · 5 H₂O v koncentrácii 0,33 % hmotn. v destilovanej vode. Sterilná kultivačná pôda sa naočkovala s 11 až 12 hodinovou kultúrou *Enterococcus faecium* a pridal sa sterilný roztok Na₂SeO₃ · 5 H₂O v množstve 10 ml. Čas kultivácie pri 37 °C bol 15 hodín. Po skončení fermentácie sa bunky separovali centrifugovaním pri 3000 ot./min., trikrát premyli sterilným fyziologickým roztokom a nakoniec sa lyofilizovali.

Lyofilizované bunky mikroorganizmu sa uchovávali v uzavretej nádobe pri 4 °C, pričom ich životaschopnosť sa nemení v priebehu 6 mesiacov a má hodnotu 2,3 · 10¹¹ živých baktérií/1 g sušiny. Obsah organicky viazaného selénu v baktériách sa stanovil atómovou absorpčnou spektrometriou a mal hodnotu 410 µg Se/1g lyofilizovaných baktérií.

Príklad 2

Príprava probiotika s obsahom organicky viazaného selénu kultiváciou *Bifidobacterium longum*

Baktérie druhu *Bifidobacterium longum* sa kultivovali podľa postupu uvedeného v príklade 1 s tým rozdielom, že sa pridalo 14 ml sterilného roztoku $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ a kultivácia prebiehala za anaeróbných podmienok pod atmosférou CO_2 18 hodín pri teplote 40 °C.

Obsah živých zárodkov v 1g lyofilizovaných baktérií bol $9,0 \cdot 10^{11}$ a obsah organicky viazaného selénu bol 420 µg Se/1g lyofilizovaných baktérií.

Priemyselná využiteľnosť

Prostriedok podľa vynálezu má využitie vo farmaceutickom priemysle na výrobu preparátov s preventívnym alebo terapeutickým uplatnením v humánnej a veterinárnej medicíne, taktiež aj v potravinárskom priemysle ako prídavok k rôznym druhom potravín, ako sú jogurty, acidofilné mlieko, jedlé tuky, cukrárske výrobky.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Prostriedok na báze probiotík, vyznačujúci sa tým, že je tvorený lyofilizovanými probiotickými baktériami mliečneho kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* s organicky naviazaným selénom v množstve 410 až 420 µg Se/1g lyofilizovaných baktérií, pričom obsah živých zárodkov v 1 g lyofilizovaných baktérií je $2,3$ až $9,0 \cdot 10^{11}$.

2. Spôsob prípravy probiotických baktérií obsahujúcich v prostriedku podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že baktérie mliečneho kysnutia rodov *Enterococcus* alebo *Bifidobacterium* sa kultivujú v kultivačnom médiu za prídavku anorganickej soli selénu v množstve 0,00033 až 0,00046 % hmotn. pri teplote 37 až 42 °C počas 15 až 18 hodín, vzniknutý produkt sa oddelí, premyje sterilným fyziologickým roztokom a nakoniec sa podrobí lyofilizácii.

3. Spôsob prípravy probiotických baktérií podľa nároku 2, vyznačujúci sa tým, že kultivácia prebieha za anaeróbných podmienok pod atmosférou CO_2 .

4. Použitie prostriedku podľa predchádzajúcich nárokov na prípravu potravinárskych výrobkov s probiotickými účinkami.

Koniec dokumentu
